

分子マーカーを用いた河畔性樹木オニグルミの繁殖生態に関する研究

著者	木村 恵
号	763
発行年	2003
URL	http://hdl.handle.net/10097/16018

氏 名(本籍)	き 木	むら 村	めぐみ 恵
学 位 の 種 類	博 士 (農 学)		
学 位 記 番 号	農 博 第 7 6 3 号		
学位授与年月日	平 成 16 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
研 究 科 専 攻	農学研究科資源生物科学専攻 (博士課程)		
学 位 論 文 題 目	分子マーカーを用いた河畔性樹木オニグルミの繁殖生態 に関する研究		
論文審査委員	(主 査)	教 授	清 和 研 二
	(副 査)	教 授	菅 原 和 夫
		教 授	木 島 明 博
		助教授	陶 山 佳 久

論文内容要旨

第1章 緒論

近年、河畔林の持つ土壌流出防止、洪水調節、水質浄化など様々な環境保全機能が報告されるとともに、河畔林の保全・再生への意識が高まってきている。その一方で、河畔域の土地利用に伴う河川改修工事等の人為的な改変により、河畔林の消失や断片化、疎林化が進んでいる。河畔林を構成する樹木にとって、このような変化は個体数の減少という直接的な作用にとどまらず、残存個体群における花粉流動の変化や遺伝的多様性の損失を介して次世代の更新に悪影響を及ぼす恐れがある。従って河畔林の持続的な保全・管理を進めていくためには、河畔林構成種の繁殖特性や個体群の遺伝的多様性維持機構を解明すると同時に、個体群の密度など、分布パターンの変化が個体群の維持に及ぼす影響を予測することが必要である。本研究では、日本の河畔林に広く分布し、河畔林の主要構成種であるオニグルミ (*Juglans ailanthifolia* Carr.) を対象として、その開花特性と性表現を調べるとともに、個体群密度の異なる林分で花粉流動パターンを調べた。また同一河川流域に成立する複数の個体群の遺伝子組成とそれぞれの個体群で生産された種子の遺伝子組成を調べ、オニグルミ自然個体群における遺伝的構造と遺伝子流動の実態を明らかにした。これらの結果をもとにオニグルミ個体群の密度の変化が個体群の維持に及ぼす影響を予測し、河畔林を保全するための留意事項について検討した。

第2章 オニグルミ自然個体群における開花特性

オニグルミと同じクルミ属の *Juglans hindsii* や *J. regia* では、同じ個体群の中に雌性先熟個体（柱頭がまず受容状態になり、続いて葯が成熟する開花タイプ）と雄性先熟個体（葯がまず成熟し、続いて柱頭が受容状態となる開花タイプ）の2つの開花タイプが存在する開花様式（heterodichogamy）であることが報告されている。しかしながら、我が国に広く分布するクルミ属樹木のオニグルミについてはその開花特性は明らかにされておらず、他のクルミ属においても自然個体群における詳細な観察はされていない。そこで本章ではオニグルミの開花特性を明らかにすることを目的とし、宮城県鬼

首 ($n=138-188$) と北海道濃昼 ($n=157$) の 2 つの自然個体群において開花フェノロジー調査を行った。

調査したいずれの個体群においても雌性先熟個体と雄性先熟個体が観察され、オニグルミは heterodichogamy であることが明らかとなった。個体内における花序ごとの開花フェノロジーを詳しく調べた 19 個体中 17 個体では、個体内の雌花と雄花の開花期間が重複せず、雌雄異熟性が自殖回避に寄与していることが示唆された。また個体群全体では雌性先熟タイプと雄性先熟タイプの雄花と雌花それぞれの開花ピークが同調し、両開花タイプ間で相補的に開花していたことから (Fig. 1)、花粉のやりとりも 2 タイプ間で相補的に行われていると考えられた。調査個体群内にはさらに雌花のみを咲かせる雌タイプや雄花のみを咲かせる雄タイプも稀に存在したが、これらは両性タイプより個体サイズが小さいことから (Fig. 2)、資源量に依存した一時的な開花タイプであると推察された。これらのことから、オニグルミの自然個体群を構成する主な開花タイプは雌性先熟タイプと雄性先熟タイプであることが明らかになった。

第 3 章 雌性先熟個体および雄性先熟個体における繁殖努力と繁殖成功の比較

これまでにも heterodichogamy を示すいくつかの種において、繁殖努力 (開花量) や繁殖成功 (種子生産量) を雌性先熟タイプと雄性先熟タイプで比較した研究があるが、それらをまとめると 2 つの異なった様式に分けられる。1 つは両タイプ間で繁殖努力と繁殖成功に差がみられなかったため、雌としても雄としても同等の機能を示す様式である。一方、いくつかの種では両タイプ間の繁殖成功に差がみられ、それぞれのタイプが雌、雄いずれかに特化した性表現を示しているため、雌雄異株へ変化している過程であると考えられている。そこで本章では、オニグルミにおいて 2 タイプそれぞれの雌・雄機能に違いがあるのかを明らかにすることを目的として、雌雄それぞれの繁殖努力 (開花量)、雌としての繁殖成功 (結実量) を両タイプ間で比較した。さらにマイクロサテライトマーカーを用いた種子の父性解析を行うことにより、これまで困難であった雄としての繁殖成功 (花粉親として生産した種子数) を推定し、タイプ

間で比較した。

オニグルミでは雌性先熟個体 ($n=53$) と雄性先熟個体 ($n=36$) の繁殖努力と繁殖成功に有意な差がみられないことが明らかとなった (Fig. 3, 4)。また花粉親が特定された種子の 9 割以上 (522 種子) が両タイプ間の相補的な交配によって生産されていることが判った。つまりオニグルミにおける雌性先熟タイプ、雄性先熟タイプはどちらかが雌機能または雄機能に偏ることは無く、両性ともに等しく機能していることが明らかとなった。さらに、単性タイプである雌タイプや雄タイプの繁殖努力、繁殖成功は小さかったことから (Fig. 3, 4)、オニグルミにおける heterodichogamy は雌雄異株への過程ではなく、両性個体における雌機能、雄機能それぞれを効率的に発揮させるとともに他殖を促す開花システムであると考えられた。

第 4 章 花粉親としての種子生産に影響を及ぼす要因の分析

Heterodichogamy という開花様式を示すオニグルミの種子生産には、両タイプの開花期間の一致度合いが大きく影響すると考えられ、さらには開花量、個体間距離なども大きく関わると思われる。そこで本章ではマイクロサテライトマーカーを用いた種子の父性解析により実際に自然個体群において種子を生産した花粉の動きを調べ、花粉親としての種子生産に影響を及ぼす要因の解析を試みた。

その結果、雄花の開花量が多い個体ほど花粉親として多くの種子生産を行っていることが判った (Fig. 5)。また花粉親が特定された種子の 98.5% が 100m 内からの送粉によって生産されており、個体間距離が近いほど交配は起こりやすく (Fig. 6)、多くの種子生産が行われていた (Fig. 7)。さらに母樹との開花期間が一致する度合いが高い花粉親ほど交配に成功していた (Fig. 8)。このようにオニグルミの種子生産は開花量や個体間距離、開花期間の一致度など、柱頭に届く花粉密度に関わる要因が大きく影響することが明らかとなった。これらのことから生育環境の改変により個体群密度の低下が起きた場合には、種子生産や花粉流動が変化する可能性が示唆された。

第 5 章 低密度林分における花粉流動解析

第 4 章の結果から、個体群密度が高い林分においては開花フェノロジーとともに個体間距離（＝密度）が種子生産に影響することが明らかとなった。本章では、低密度の林分において種子の父性解析を行うことにより、個体群密度がオニグルミの花粉流動に与える影響を調べた。調査は北海道富良野市にある東京大学大学院農学生命科学研究科附属、科学の森教育研究センター岩魚沢天然林で行った。この林分の開花個体群密度は 0.3 個体/ha であり、前章の調査地である鬼首個体群（12.1 個体/ha）の 40 分の 1 であった。またこの林分では個体内の開花時期が重複している個体も多く観察された。調査区内の 11 母樹から採取した 418 種子の父性解析の結果、5 割以上の種子の花粉親が特定された。このうち 9 割の種子は 200m 未満の送粉によって生産されていたが、中には 1km を越える長距離の送粉も確認された（Fig. 9）。また鬼首個体群と同様に雌性先熟と雄性先熟のタイプ間交配による種子が最も多かったが、同じ開花タイプ同士の交配や自殖によって生産された種子も確認され、鬼首個体群とは異なる花粉流動パターンがみられた（Fig. 10）。これらの結果から、個体群密度の低下は交配パターンの変化を介して次世代の更新にも影響を及ぼす可能性があることが示唆された。

第 6 章 同一河川流域に成立する個体群間の遺伝子流動解析

個体群の維持を考える上では個体群間で生じている遺伝子流動の程度を知ることが重要である。前章までの結果から、オニグルミの花粉流動は主に異なる開花タイプ間で生じており、個体間距離や開花量、開花期間の一致度合いの影響を受けることが判った。このような種では個体群間の距離や開花タイミングの違いが遺伝的構造に影響を及ぼすことが考えられる。そこで本章では、宮城県の同一河川流域に成立する 9 個体群と北海道の 1 個体群を対象とし（Fig. 11）、10 遺伝子座のマイクロサテライトマーカーを用いて各地域個体群における成木の遺伝子組成を比較した。またそれぞれの成木から採取した種子の遺伝子型から仮想的な花粉親個体群の遺伝子組成を推定し、現在生じている個体群間の花粉流動についても調べた。

成木個体群の遺伝子分化係数（ G_{ST} ）は 0.03 と低い値を示し、個

体群間の遺伝的な差異は小さかった。また個体群間の遺伝的な距離と地理的な距離との間に相関はみられなかった。花粉親個体群間の遺伝的な差異も小さく ($G_{ST}=0.05$)、遺伝的距離と地理的距離との相関も無かったが、成木個体群よりも高い値を示した。成木個体群間の遺伝的距離が平均 0.17 であるのに対し、花粉親群は平均 0.21 であり花粉親群の方が個体群間の違いが大きい傾向を示した。また同じ場所の成木群と花粉親群間の遺伝距離は平均 0.07 と小さく、遺伝距離に基づくデンドログラムでは 9 個体群中 8 個体群で最近接に配置された (Fig. 12)。これらのことから、オニグルミにおける個体群間の花粉流動は少なく、主な種子生産は狭い範囲の花粉流動で生じていると考えられる。しかし、個体群間の遺伝的分化の程度は低いので、稀な長距離の花粉流動や種子の長距離散布などによって広い範囲での遺伝子流動が起きている可能性が考えられる。

第 7 章 総合考察

オニグルミは雌性先熟個体と雄性先熟個体の 2 つの開花タイプを持つ heterodichogamy であることが明らかとなった。雌性先熟・雄性先熟両タイプ間で繁殖努力（開花量）と繁殖成功（種子生産量）は等しかったことから、オニグルミにおける heterodichogamy は両性個体における雌機能、雄機能を効率的に発揮させるとともに他殖を促す開花システムであると考えられた。また花粉親としての種子生産には雄花の開花量や個体間距離、開花期間の一致度が影響することが明らかとなった。さらに個体群密度の低下は自殖率の増加など交配パターンの変化を引き起こし、種子生産に影響を及ぼすことが示唆された。また高密度な個体群の場合には個体群間での花粉流動は少なく、交配は主に個体群内で生じていることが判った。

このようにオニグルミの種子生産は近接個体からの花粉流動に強く依存するため、開花個体群密度を低下させる河畔域の人為的改変は次世代の更新に影響する恐れがある。また長距離の送粉は、開花個体群密度が低い場合に種子生産に直接寄与するだけでなく、個体群密度が高い個体群においては種子散布とともに遺伝的多様性維持に貢献すると考えられる。これらのことから、個体群を維持するためには広範囲にわたる林分の保全が重要だと考えられる。

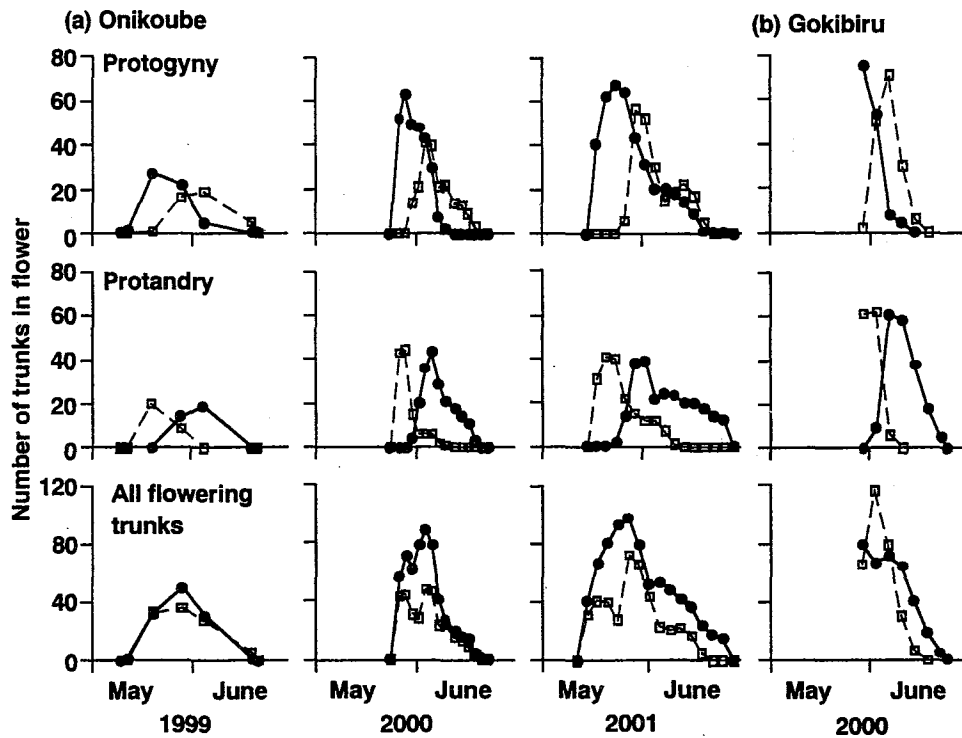


Fig. 1. Changes in total number of trunks in flower for each mating type of *Juglans ailanthifolia* for each day of the 1999–2001 flowering season at the Onikoube site, and for the 2000 flowering season at the Gokibiru site. □, flowering trunks with male flowers; ●, flowering trunks with female flowers.

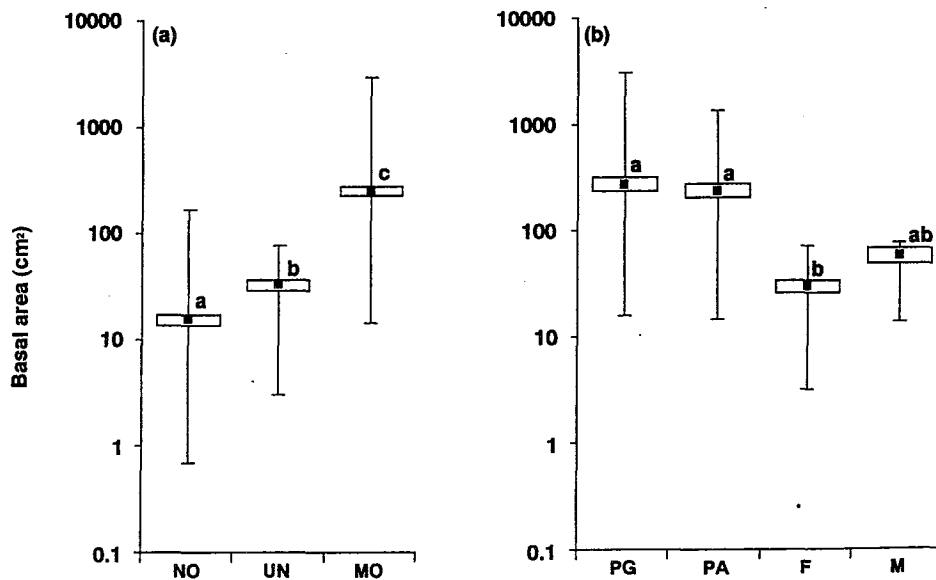


Fig. 2. Mean basal area for each mating type of *Juglans ailanthifolia* at the Onikoube site in 2000. (a) NO, non-flowering; UN, unisexual; MO, monoecious; (b) PG, protogyny; PA, protandry; F, female; M, male. Solid squares show mean values, boxes show \pm SE values, and vertical bars show minimum and maximum values. Values with different letters are significantly different (ANOVA followed by the Tukey-Kramer test, $P < 0.01$).

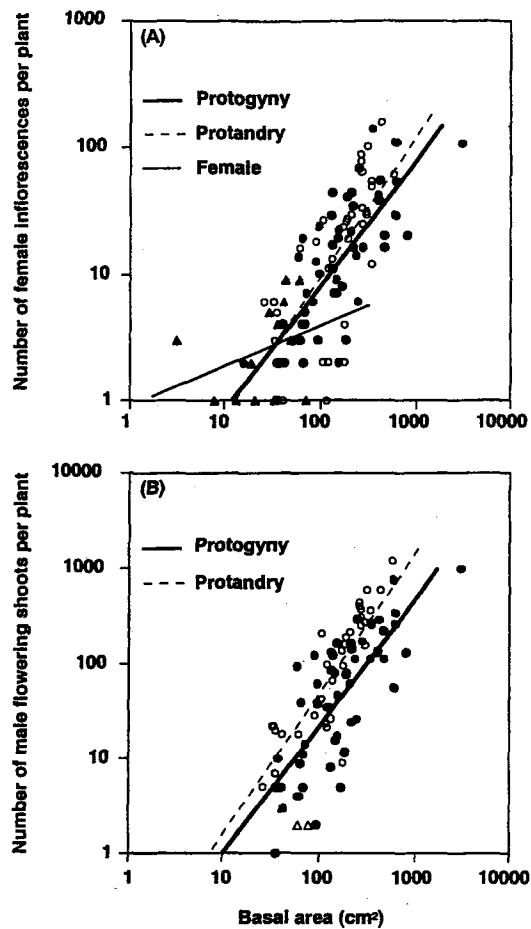


Fig. 3. Relationships between plant size (basal area) and (A) number of female inflorescences, (B) number of male flowering shoots per plant of *Juglans ailanthifolia* in Onikoube site in 2000. ●, protogyny; ○, protandry; ▲, female; △, male.

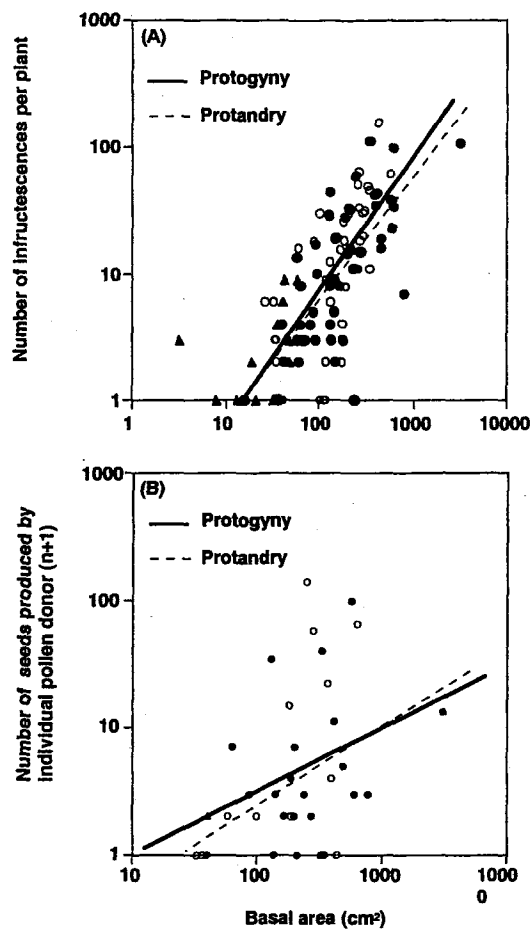


Fig. 4. Relationships between plant size (basal area) and (A) number of infructescences, (B) number of seed produced *Juglans ailanthifolia* in Onikoube site in 2000. ●, protogyny; ○, protandry; ▲, female; △, male.

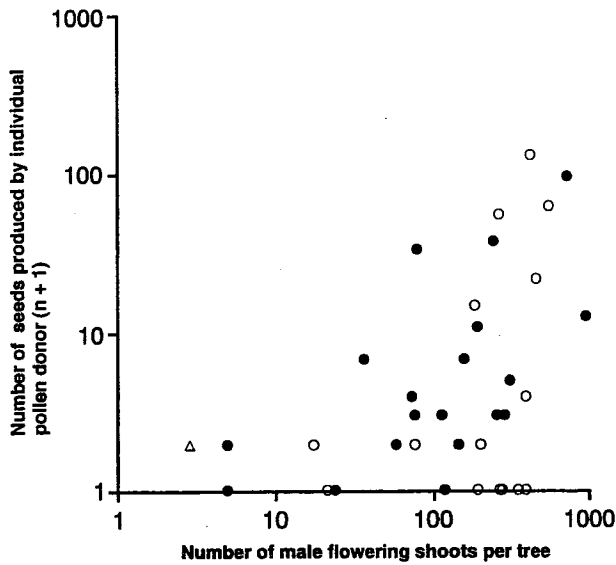


Fig. 5. Relationships between number of male flowering shoots per tree and number of seeds produced by individual pollen donor in *Juglans ailanthifolia* in Onikoube site in 2000. ●, protogyny; ○, protandry; △, male.

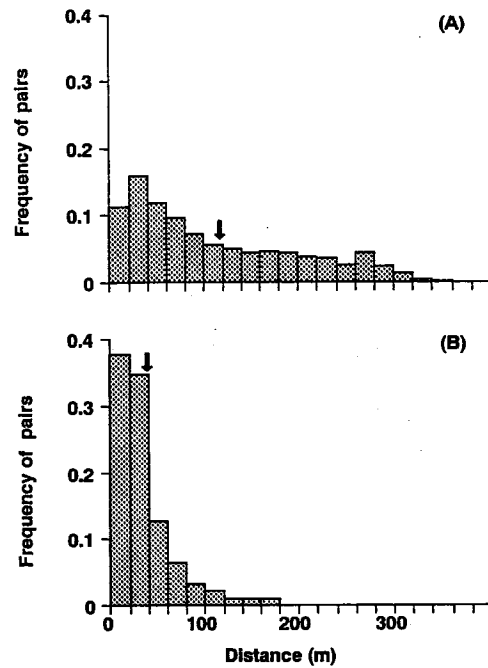


Fig. 6. Frequency distributions of distance (A) between all pairs of maternal trees and candidates of pollen donor, and (B) between pairs having their seed in Onikoube site in 2000. The arrows indicate average.

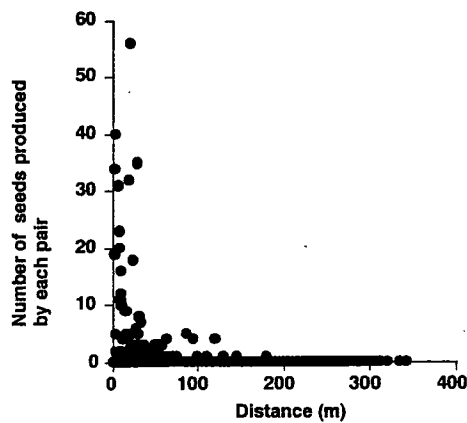


Fig. 7. Relationships between distance and number of seeds produced by each pair in *Juglans ailanthifolia* in Onikoube site in 2000.

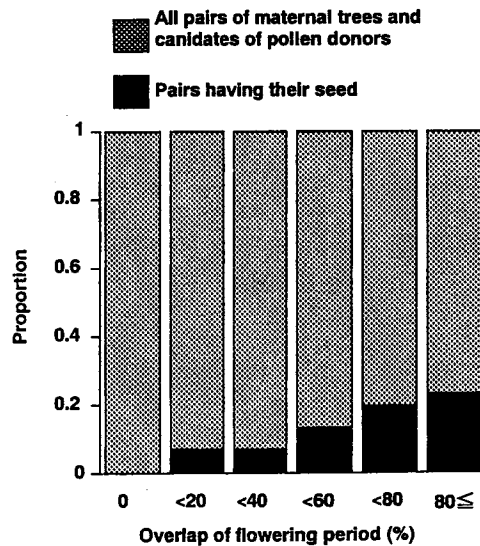


Fig. 8. Proportion of pairs having their seed to all pairs of maternal trees and candidates of pollen donors in Onikoube site in 2000.

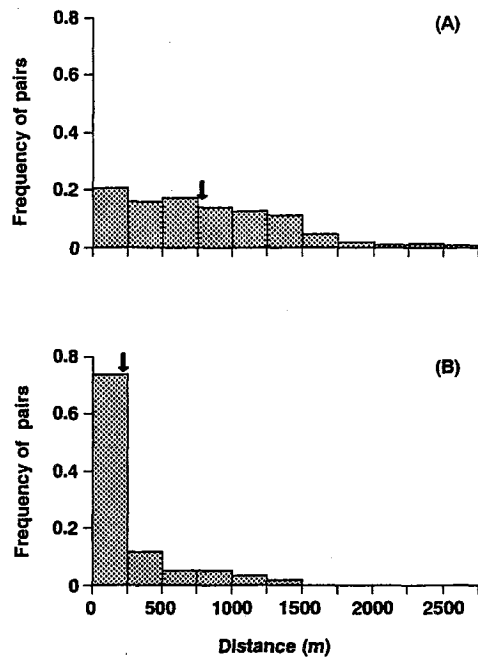


Fig. 9. Frequency distributions of distance (A) between all pairs of maternal trees and candidates of pollen donor, and (B) between pairs having their seed in Furano site in 2002. The arrows indicate average.

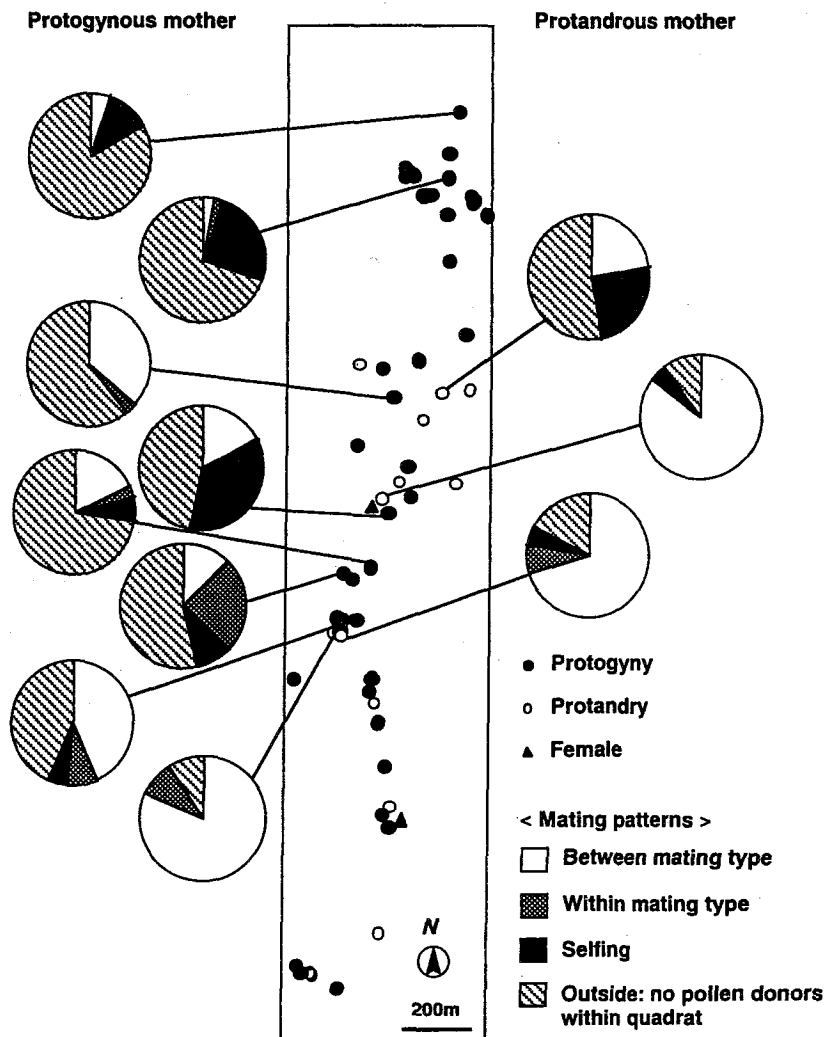


Fig. 10. Proportion of mating pattern in each mother tree in Furano site in 2002.

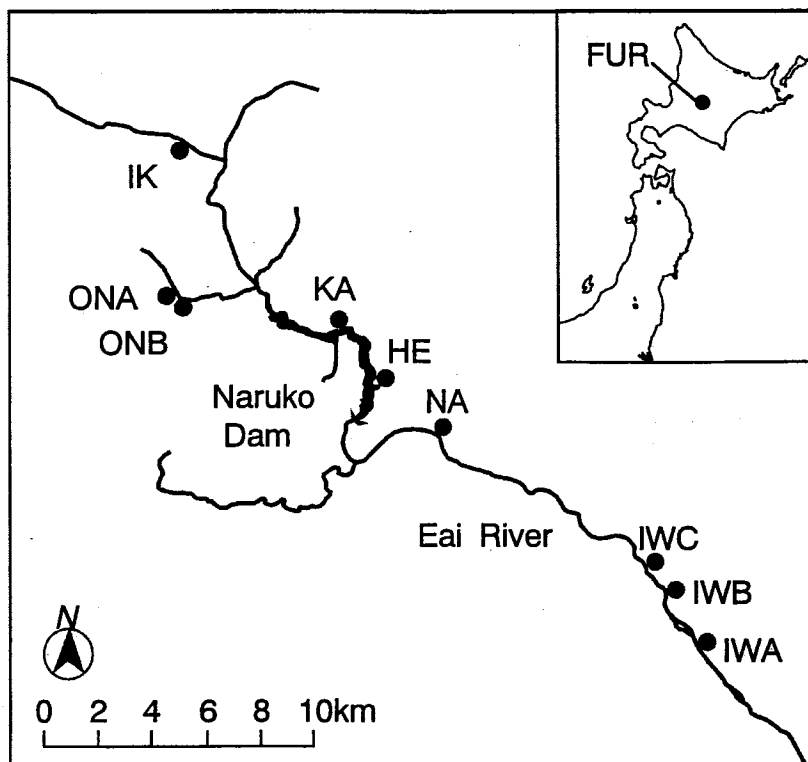


Fig. 11. Schematic map of nine sample sites indicating by closed circles.

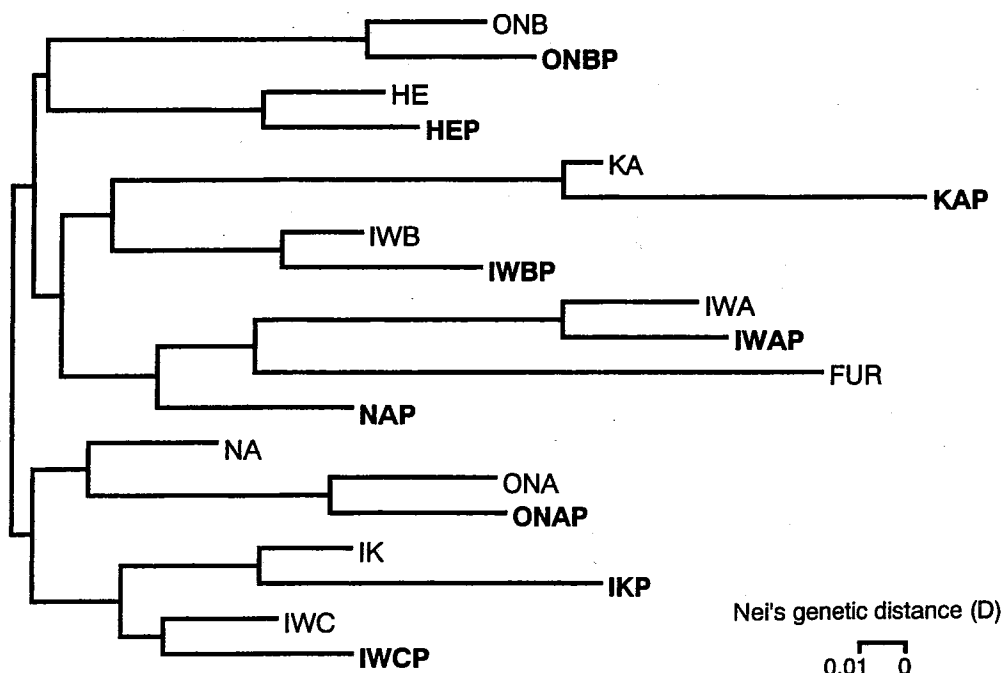


Fig. 12. Neighbour-joining trees based on Nei's genetic distance between ten adult populations and nine pollen populations. Pollen populations are represented in bold.

論文審査結果要旨

河川に沿って成立する河畔林には様々な環境保全機能が認められているが、河川改修工事等によって多くの河畔林が消失・断片化してきている。このような河畔林の急速な劣化は構成樹木の個体数の減少だけでなく、残存個体群における花粉流動や種子分散パターンも変化させ、ひいては遺伝的多様性も減少させている可能性がある。本研究は、日本に広く分布し河畔林の主要構成種であるオニグルミ (*Juglans ailanthifolia* Carr.) 自然個体群を対象とし、その繁殖特性を明らかにするとともに、マイクロサテライトマーカーを用いて遺伝子流動の実態を解明し、河畔林保全のための基礎的な知見を得ようとしたものである。本論文はまず、オニグルミ自然個体群における開花パターンの調査から、本種が雌性先熟個体と雄性先熟個体の2つの開花タイプを持つ heterodichogamy であることを明らかにした。さらに雌性先熟・雄性先熟両タイプ間で、開花期間の相補性が確認され、また繁殖努力（開花量）と繁殖成功（種子生産量）が等しいことを明らかにした。とくにこれまでほとんど実測されたことの無かった雄としての繁殖成功を、マイクロサテライトマーカーを用いた種子の父性解析により実測したことは、画期的な成果である。オニグルミは両性個体として雌・雄両機能を同等に発揮させるとともに効率的に他殖を促す開花システムをもつ種であることが明らかになった。またオニグルミが花粉親として種子生産を行う場合、雄花の開花量が多いほど、2つの開花タイプの個体間距離に近いほど、また両タイプの開花期間の一致度が高いほど、種子生産量が多いことを明らかにした。

さらに個体群密度の異なる林分で花粉流動パターンを比べた結果、個体群密度が低い個体群では自殖率が高いことが明らかになった。また一つの河川沿いに成立するものの互いに遠く離れて立地する複数の高密度個体群の遺伝構造や花粉流動を調べたところ、個体群間の遺伝的分化の程度は低いものの、個体群間での花粉流動は少なく、交配は主に個々の個体群内で生じていることが明らかになった。オニグルミの種子生産は近接個体からの花粉流動に強く依存すると考えられ、河畔林における人為的な個体群密度の低下は次世代の更新に悪影響を及ぼす可能性があることが示唆された。一方、本研究は1 kmを超す長距離送粉の案態を明らかにし、種子散布とともに自然個体群における遺伝的多様性維持に貢献していることが示唆された。

本論文は、まず、オニグルミの開花様式を複数の自然個体群における詳細な開花調査から明らかにした。さらに、これまでの樹木の繁殖戦略を明らかにする上で、最も不正確な推定に基づいて議論されてきた“雄としての繁殖成功”を、種子を生産させた花粉親をマイクロサテライトマーカーを用いて特定することによって、極めて高い精度で推定した画期的な研究である。この手法は河畔林のみならず多くの森林樹木の繁殖構造の解明に適用できると考えられ、また、さらなるデータの蓄積により河畔林の保全指針にも繋がるものと期待される。

よって、審査員一同は、本論文が博士（農学）の学位を授与するに値するものと判定した。